



TITLE:

# 呼吸器系ウイルスの化学療法剤の研究( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

高田, 純

---

CITATION:

高田, 純. 呼吸器系ウイルスの化学療法剤の研究. 京都大学, 1963, 薬学博士

ISSUE DATE:

1963-06-25

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/211125>

RIGHT:

氏 名	高 田 純 たか だ あつし
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	論 薬 博 第 5 号
学位授与の日付	昭 和 38 年 6 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	呼吸器系ウイルスの化学療法剤の研究

(主 査)  
論文調査委員 教授 鈴木友二 教授 掛見喜一郎 教授 高木博司

### 論 文 内 容 の 要 旨

抗ウイルス性化学療法剤を見出すために多数の研究がおこなわれているが、実際に治療薬となった化合物はほとんどまわれていない。またインフルエンザウイルス、アデノウイルスなど、いわゆる呼吸器系ウイルスによっておこる疾患に対しての有効な化学療法剤も見出されていないので、これらのウイルスによりおこるいわゆる流行性感冒に有効な化学療法剤が望まれている。1960年 Melander らが実験的インフルエンザ症に対し効果のあることを報告した 1,1-(2-oxodiethyl) biguanide [ABOB] も化学療法剤として注目されたが、その後の検討では何らの抗ウイルス作用を示さないことがあきらかにされた。著者は主としてインフルエンザウイルス、アデノウイルスなどの呼吸器系ウイルスに対し有効な化学療法剤を見出すための基礎的知見をうる目的で本研究に着手した。

まず本研究の開始にあたって、スクリーニングの対象とするウイルスとしてインフルエンザウイルス、アデノウイルスおよび日本脳炎ウイルスを、ウイルスの化学構成成分および病源性の面から考察してえらび、抗ウイルス性化合物のスクリーニング方式として、現在の実験化学療法学およびウイルス学の立場からもっとも合理的であろうと考えられる方法を定めた。

化合物の合成研究の方針としては、慶大上田教授らによって抗ウイルス作用の発現に寄与するものと考えられたアルキル基に着目しつつ、これを適当な母体化合物に導入することを考えた。母体化合物の構造としては、向神経性化合物が神経親和性あるいは組織親和性をもつことを考慮にいった。こうして向神経性化合物のアルキル誘導体の合成をくわだて、1-(P-alkylphenyl)-1-phenyl-2-methylamino-1-propanol (I), 1-(P-alkylphenyl)-1-phenyl-3-(1-piperidyl)-1-propanol (II), 1-(P-alkylphenyl)-1-phenyl-3-dimethylamino-1-propanol (III), 1-(P-alkylthiophenyl)-1-phenyl-3-(1-pyridyl)-1-propanol (IV), 1-alkyl-1-(P-alkylphenyl)-3-(1-piperidyl)-1-propanol (V),  $\gamma,\gamma$ -di(P-alkylphenyl)- $\gamma$ -butyrolactone (VI), 10-( $\omega$ -dialkylaminoalkyl)-alkylphenothiazine (VII), 10-glycylphenothiazine 誘導体 (VIII), 10-alkylphenothiazine (IX) および 10-alkylphenothiazine-5-oxide (X) の合成をおこなった。ついで、これらの化合物の日本脳炎ウイルス、

インフルエンザウイルスおよびアデノウイルスに対する抗ウイルス性をしらべ、日本脳炎ウイルスに対して I～IV に属する化合物のうちに効力を期待できるものを見出し、またインフルエンザウイルスに対しては I～V および IX, X に属する化合物に有効なものを見出した。これらのうち、1-cyclohexyl-1-(P-tolyl)-3-(1-piperidyl)-1-propanol および IV 合成の中間体の 3-(1-piperidyl)-4'-octylthiopropiophenone のインフルエンザウイルスに対する作用は従来のものと比較しかなり強い。アデノウイルスに対しては、ウイルス不活化作用を示す化合物を見出しえたが、その抗ウイルス性は弱かった。

一方著者が上記の実験をおこなっている当時、上田、Melnick, Richtsel らはそれぞれグアニジンがポリオウイルス (RNA 系ウイルスに属する) の増殖を抑制することを報告し、また同様に RNA 系ウイルスに属するハンカウイルスに対しても増殖阻害作用が認められるが、DNA を含有するウイルスのアデノウイルスおよびワクチニアウイルスに対しては何らの作用も認められないことを報告した。著者はグアニジン関連化合物のうちにさらに強い抗ウイルス性をもつ化合物を見出しえたと考え、数種のグアニジン誘導体の抗ウイルス作用を組織培養法を用いてしらべた。その結果 ethylenediguanidine が DNA 含有ウイルスのアデノウイルスの増殖を抑制することを認めた。この化合物の作用を検討し、ethylenediguanidine は DNA 含有ウイルスに属するアデノウイルス、ワクチニアウイルスの増殖を阻害するが、RNA 含有のポリオウイルスおよびハンカウイルスに対して何らの抗ウイルス性を示さないことを、ウイルスの増殖度を測定する方法によって確かめたが、以上の実験によってこの化合物は作用するウイルスがグアニジンの場合と逆であることを知った。さらに宿主細胞でのウイルスの増殖に対するこの化合物の影響をしらべるため、one step growth の段階において growth curve を測定し、 $10^{-8}$  モルの ethylenediguanidine の添加によってアデノウイルスの細胞内増殖が 1/1000 に低下することを認め、この化合物は細胞内のアデノウイルス増殖を抑制することをあきらかにした。

また ethylenediguanidine の作用をくわしくしらべるため、ウイルスの細胞内増殖を測定する新しい手法として最近もっとも注目されている蛍光抗体法を応用して検討をおこなった。この方法によればたんに質でつまれた感染ウイルスおよびウイルス抗原を fluorescent isothiocyanate と conjugate した抗血清と結合させることによって、強力な紫外線照射下に暗視野顕微鏡でみることができる。黄緑色の著明な蛍光の発現のため、今までの方法で測定しえない微量のウイルスまたはウイルス抗原の存在部位を確認でき、再生過程の解析に応用できる。このような応用例は癌ウイルスの研究その他で現在いくつかみられるが、この方法を抗ウイルス性物質の作用の検討に用いた報告はない。著者はこの蛍光抗体法が細胞内のウイルス再合成過程において形成されたウイルス抗原を測定する方法であることに着目し、この方法によってウイルスの増殖を阻害する物質のウイルス抗原形成に対する影響を検討でき、同時にその抑制作用についてもより精細に観察しうるものと考えた。そこでこの方法を ethylenediguanidine の作用の検討に応用し、アデノウイルス-Hep. No.2 細胞系でウイルス抗原形成に対する影響をしらべ、single growth cycle におけるウイルス抗原形成を 1/100 以下に抑制することをあきらかにすることができた。またウイルス濃度と蛍光細胞数との間に直線関係が認められることから、この実験の精度が高く、信頼度の高いことも認められた。なお同時に ethylenediguanidine の作用は細胞内のウイルス再合成ステップのうち、ウイルス抗原形成にいたるより以前の段階を抑制するものであると推論した。

以上の実験を通じてえられた結果を列記すると、(1)1-(P-alkylphenyl)-1-phenyl-1-propanol, 1-(P-alkylphenyl)-1-phenyl-3-amino-1-propanol誘導体, 1-alkyl-1-(P-alkylphenyl)-3-(1-piperidyl)-1-propanol,  $\gamma,\gamma$ -di-(P-alkylphenyl)- $\gamma$ -butyrolactone, 10-( $\omega$ -dialkylaminoalkyl)-alkylphenothiazine, 10-glycyl-alkylphenothiazine, 10-alkylphenothiazine およびその 5-oxide を合成して抗ウイルス性を検討し、日本脳炎ウイルス、インフルエンザウイルスに対して抗ウイルス性をもつ数種の化合物を見出した。しかしアデノウイルスに対して強い作用を示した化合物は見出されなかった。

(2) ethylenediguanidine がアデノウイルスに対して抗ウイルス性を示すことを認め、さらにこの化合物は細胞内のウイルス増殖を抑制することを明らかにした。

(3) 蛍光抗体法をウイルス増殖阻害物質の作用の検討に応用し、この方法がその作用の解析のために有用な手段として用いることを知った。同時に ethylenediguanidine はウイルス再合成過程のうち、ウイルス抗原形成にいたるより以前の段階を阻害することを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

著者は主としてインフルエンザウイルス、アデノウイルスなどの呼吸器系ウイルスに対し有効な化学療法剤を見出すための基礎的知見をうる目的で本研究を行なった。

まず、スクリーニングの対象とするウイルスとしてインフルエンザウイルス、アデノウイルスおよび日本脳炎ウイルスを、ウイルスの化学構成成分および病原性の面から考察してえらんだ。

また、化合物の合成研究の方針としては、抗ウイルス作用の発現に寄与するものと考えられたアルキル基に着目しつつ、これを適当な母体化合物に導入することを考えた。母体化合物の構造としては、向神経性化合物が神経親和性あるいは組織親和性をもつことを考慮にいった。こうして向神経性化合物のアルキル誘導体の合成をくわだて、1-(p-alkylphenyl)-1-phenyl-2-methyl-amino-1-propanol(I), 1-(p-alkylphenyl)-1-phenyl-3-(1-piperidyl)-1-propanol(II), 1-(P-alkylphenyl)-1-phenyl-3-dimethylamino-1-propanol(III), 1-(P-alkylthiophenyl)-1-phenyl-3-(1-piperidyl)-1-propanol(IV), 1-alkyl-1-(P-alkylphenyl)-3-(1-piperidyl)-1-propanol(V),  $\gamma,\gamma$ -di-(P-alkylphenyl)- $\gamma$ -butyrolactone(VI), 10-( $\omega$ -dialkylaminoalkyl)-alkylphenothiazine(VII), 10-glycylphenothiazine誘導体(VIII), 10-alkylphenothiazine(IX), および10-alkylphenothiazine-5-oxide(X), の合成を行なった。ついで、これらの群の化合物の日本脳炎ウイルス、インフルエンザウイルスおよびアデノウイルスに対する抗ウイルス性をしらべ、日本脳炎ウイルスに対してI~IVに属する化合物のうちに効力を期待できるものを見出し、またインフルエンザウイルスに対してはI~VおよびIX, Xに属する化合物に有効なものを見出した。これらのうち、1-cyclohexyl-1-(P-tolyl)-3-(1-piperidyl)-1-propanol およびIV合成の中間体の 3-(1-piperidyl)-4-octylthiopropiophenone のインフルエンザウイルスに対する作用は従来のものと比較しかなり強い。

一方著者が上記の実験を行なっている当時、上田、Melnick, Richtsel らはそれぞれグアニジンがポリオウイルス(RNA系ウイルスに属する)の増殖を抑制することを報告し、また同様に RNA 系ウイルスに属するハシカウイルスに対しても増殖阻害作用が認められるが、DNA を含有するウイルスのアデノウイルスおよびワクチニアウイルスに対しては、何らの作用も認められないことを報告した。

著者はグアニジン関連化合物のうちにさらに強い抗ウイルス性をもつ化合物を見出しえると考え、数種のグアニジン誘導体の抗ウイルス作用を組織培養法を用いてしらべた。

その結果 ethylenediguanidine が DNA 含有ウイルスのアデノウイルスの増殖を抑制することを認めた。この化合物の作用を検討し、one step growth の段階において、growth Curve を測定し、 $10^{-8}$ モルの ethylenediguanidine の添加によってアデノウイルスの細胞内増殖が 1/1000 に低下することを認め、この化合物は細胞内のアデノウイルス増殖を抑制することをあきらかにした。

また ethylenediguanidine の作用をくわしくしらべるため、ウイルスの細胞内増殖を測定する新しい手法として蛍光抗体法を応用して作用を検討し、ethylenediguanidine がアデノウイルス——HeP, NO.2 細胞系で、single growth cycle におけるウイルス抗原形成を 1/100 以下に抑制することをあきらかにすることができた。またウイルス濃度と蛍光細胞数との間に直線関係が認められることから、この実験の精度が高く、信頼度の高いことも認められた。なお同時に、ethylenediguanidine の作用は細胞内のウイルス再合成ステップのうち、ウイルス抗原形成にいたるより以前の段階を抑制するものであると推論した。

本論文は薬学博士の学位論文として価値のあるものと認定する。